Beiträge zur Kenntnis der Ausscheidung der Saponine durch den Kot.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Medizinischen Fakultät der Universität Rostock

vorgelegt

von

Hans Bäck
Medizinalpraktikant
aus **Reichertshofen** (Bayern).

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Tag der mündlichen Prüfung: 22. Dezember 1913.

Rostock.
Rats- und Universitäts-Buchdruckerei von Adlers Erben, G. m. b. H.
1914.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät zu Rostock.

Referent: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Kobert.

Herrn Dr. med. Anton Zinsmeister
(Ingolstadt)

gewidmet.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

I. Was wissen wir bis jetzt über das Verhalten der Saponine im Magendarmkanal? 5

II. Einiges über die von mir verwandten Saponine 7

1. Über Sapindus-Saponine 7

2. Über Quillajasaponine 11

III. Eigene Versuche 12

1. Einiges über die hämolytische Wirkung der Saponine . 12

2. Vorbemerkungen über die Verarbeitung des Kotes auf Sapogenine und Saponine 15

3. Versuche an lebenden Tieren 17

Versuch I am Huhn mit Sapindussaponin 17

Versuch II am Huhn mit Quillajasaponin 23

Versuch III am Hund mit Quillajasaponin 27

Versuch IV am Hund mit Sapindussaponin 29

IV. Gesamtergebnisse 30

I. Was wissen wir bis jetzt über das Verhalten der Saponine im Magendarmkanal?

Da im Magendarmkanal Enzyme auf die Saponine langdauernd einwirken können, wofern letztere nicht sehr rasch resorbiert werden, so berührt sich unsere Frage mit der anderen:

Gibt es Enzyme, welche auf Saponine spaltend einwirken, und finden sich solche im Magendarmkanal unserer Versuchstiere und des Menschen? Daß es in Pflanzen glykosidspaltende Enzyme gibt, ist längst bekannt. Für eine Reihe von Saponindrogen wie Radix Sassaparillae und Radix Senegae konnte K o b e r t[1]) dartun, daß beim Lagern dieser Drogen deren Saponingehalt durch fermentative Zersetzung abnimmt. Von anderer Seite ist diese Angabe nachgeprüft und bestätigt worden. Es liegt nahe, diese Abnahme des Saponingehaltes auf spaltende, in diesen Drogen präformierte Enzyme zu beziehen. Auch die Abnahme des Saponingehaltes in verschimmelten oder bakteriell getrübten Quillajainfusen und Senegadekokten ist auf spaltende Enzyme dieser Mikroben zu beziehen. Aus einem dieser Schimmelpilze, den man in Ostasien technisch verwertet, gelangt das Enzym in Form der sogenannten Takadiastase in den Handel. In Wahrheit handelt es sich bei diesem Präparate allerdings um ein Gemisch recht verschiedener Enzyme. Mischt man eine frische Anreibung oder Lösung dieser Takadiastase mit Saponinen, so tritt

[1]) R. K o b e r t, Ber. d. Deutschen Pharmazeutischen Ges. Jg. **22**, 1912, S. 205.

nach H. Blau[1]) und nach E. Sieburg[2]) langsam, aber bestimmt eine hydrolytische Spaltung ein, die der durch Zerkochen mit verdünnten Mineralsäuren ganz analog ist. Führt man diese Spaltung durch Bakterien aus, so verbrauchen diese natürlich rasch den abgespaltenen Zucker und man findet sehr bald von diesem nichts mehr. Wartet man noch länger, so zersetzen manche Mikroben auch das Aglykon, so daß es für die üblichen Reaktionen nicht mehr nachweisbar ist. Ob Malzdiastase bei Ausschluß von Mikroben auf Saponine zerlegend wirkt, ist strittig, da Brandl und Mayr[3]) bei Versuchen mit Kornradensaponinen keine Spaltung erzielen konnten, Blau (l. c.) mit einem Kastaniensaponin aber wohl. Auch durch Invertin der Hefe konnte Blau dieses Saponin spalten. Die nach Wakulenko[4]) auf Amygdalin und analoge Glykoside spaltend einwirkende Rizinuslipase vermag nach dem genannten Autor Saponine allerdings nicht zu zerlegen. Soviel über Versuche Saponine durch vegetabilische Enzyme zu zerlegen. Von tierischen Fermenten hat z. B. das Pankreatin nach Holste[5]) auf das nach Sieburg (l. c.) zu den Saponinen gehörige Helleborein einen entgiftenden Einfluß, was nach dem Genannten „sicherlich durch fermentative Spaltung zu erklären ist." Falls dieses richtig ist, müssen die innerlich eingegebenen Saponine, soweit sie nicht rasch resorbiert werden, im Dünndarm durch den Pankreassaft wenigstens teilweise zerlegt werden. Ptyalin und Pepsin fanden Brandl und Mayr (l. c.) ohne Einwirkung. Gaben sie einem Hunde Agrostemma-

[1]) Heinr. Blau, Beitr. zur Kenntnis der Saponine, Diss. Zürich 1911.

[2]) E. Sieburg, Archiv der Pharmazie Bd. 251, 1913, S. 166.

[3]) Brandl und Mayr, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. Bd. 59, 1908, S. 266.

[4]) Iwan Wakulenko, in Kobert, Beitr. zur Kenntnis der vegetab. Hämagglutinine Teil II. Berlin 1913, S. 1.

[5]) Holste, Arch. für exper. Pathol. u. Pharm. Bd. 68, 1912, S. 323.

sapotoxin innerlich ein, so konnten sie aus dem Kot das Endsapogenin dieses Saponins darstellen. Analoge Versuche dieser Autoren an Hühnern und Kaninchen fielen jedoch nicht entsprechend aus, d. h. aus dem Kote ließ sich weder das Agrostemmasapotoxin noch ein Sapogenin desselben darstellen. Offenbar geht das gebildete Sapogenin bei diesen beiden Tierklassen infolge des beträchtlichen Bakterienreichtums des Darmkanals so tiefgreifende Spaltungen ein, daß es für chemische und biologische Reaktionen unnachweisbar wird.

Meine Aufgabe war nun, diese wichtigen Versuche von Brandl und Mayr, die noch niemand nachgeprüft hat, mit zwei anderen Saponinen zu wiederholen.

II. Einiges über die von mir verwandten Saponine.

1. Über Sapindus-Saponine.

Ich schicke im Anschluß an Kruskal[1]) einige botanische Vorbemerkungen voraus. Vertreter der Gattung Sapindus, die von Linné 1737 aufgestellt wurde, waren schon im Altertum bekannt. So wurden in ägyptischen Gräbern Seifenfrüchte gefunden. Die Sapindusarten wachsen meist als Bäume oder Sträucher mit paarig oder unpaarig gefiederten Blättern. Die bekannteste Vertreterin der Gattung ist nach Radlkofer Sapindus Saponaria L., der gemeine Seifenbaum des tropischen Amerika. Derselbe wird fast 10 m hoch und kennzeichnet sich durch die weißrindigen Äste der weitgespreizten Krone, durch die breitgeflügelten Stiele der 3—4paarigen Blätter und durch seine galläpfelgroße, glänzend aussehende, schwarzrote, süßlich-bitter und zusammenziehend schmeckende Frucht, die sog. Seifenfrucht.

---

[1]) Nikolai Kruskal, Arbeiten des pharmakol. Institutes zu Dorpat, hsgbn von R. Kobert, Bd. 6, Stuttgart 1891, S. 1.

Diese enthält in den Parenchymzellen des Sarcocarpiums eine Saponinsubstanz, welche der Frucht ihren praktischen Wert verleiht. Früher zu Heilzwecken verwendet, hat die Frucht heute keine medizinische Bedeutung mehr. Dagegen nahm ihre technische Verwertung zu und wurde zugleich zur Namengeberin für die Pflanze: Sapindus = sapo Indus = indische Seife, weil die Indianer die Frucht zum Waschen des Körpers und der Leinwand benutzten. In Brasilien, in Zentralamerika und in den englischen Kolonien Westindiens wird die Frucht ebenfalls als Seife benützt. Ihre Wirkung soll nach Bernardin 60 mal stärker sein als die der gewöhnlichen Seife. Sie greift Wäsche und Kleider nicht an, obwohl sich in der Literatur die gegenteilige Meinung ausgesprochen findet. Auch zum Reinigen von Küchengeräten und Silbergefäßen wird die Sapindusfrucht verwendet. Sie wird ferner seit prähistorischer Zeit ins Wasser gebracht, um die Fische zu betäuben. Die saponinfreien Kerne der Frucht werden zu Knöpfen und Rosenkränzen verarbeitet.

Außer Sapindus Saponaria gibt es noch eine Reihe von Sapindusarten, die eine ähnliche Verwendung gefunden haben und ebenfalls saponinreich sind. Ich nenne Sapindus Mukorossi Gärtn. aus China und Ostindien, Sapindus marginatus Willd. aus Brasilien, Sapindus trifoliatus L. aus Indien und andere. Außer im Fruchtfleisch ist bei einzelnen Sapindusarten auch in der Rinde Saponin nachgewiesen worden, z. B. bei Sapindus varicatus St. Hil. aus Brasilien. Bei noch anderen fand man die Früchte eßbar, aber die Samen und Wurzeln giftig, z. B. bei Sapindus esculentus St. Hil. aus Brasilien. In den Blättern findet sich nach Radlkofer sowohl bei Sapindus Saponaria als bei anderen Spezies Saponin.

Wenden wir uns nun zu den chemischen Bestandteilen unserer Droge.

Die Darstellung der Saponinsubstanz aus dem Fruchtfleisch der in Rede stehenden Sapindusarten kann nach verschiedenen Methoden erfolgen. Kruskal hat das Fruchtfleisch von Sapindus Saponaria, Weil[1]) das von Sapindus Mukorossi als Ausgangspunkt benutzt. Die von Kruskal angewandte Bleimethode von Kobert und Pachorukow[2]) besteht in Folgendem. 200 g Sapindusnüsse werden in heißem Wasser aufgeweicht, die Kerne entfernt und die übriggebliebene Masse mit zwei Liter Wasser 10 mal je eine Stunde lang gekocht. Die wässerigen Dekokte werden vereinigt und mit neutralem Bleiacetat im Überschuß versetzt. Dabei entsteht eine grau-braune Fällung, welche zum größten Teil aus organischen Salzen und Farbstoffen besteht. Nach dem Absetzen des Niederschlages wird filtriert und der Filterrückstand anfangs mit bleiacetathaltigem Wasser, dann mit reinem Wasser ausgewaschen. Die Waschwässer werden alsdann mit dem ersten Filtrat vereinigt, welches eine ganz helle, vollkommen durchsichtige Flüssigkeit darstellt. Nachdem man sich überzeugt hat, daß darin neutrales Bleiacetat keinen Niederschlag mehr gibt, wird die Flüssigkeit auf dem Dampfbade konzentriert, nochmals mit Bleiacetat geprüft und sodann mit einem Überschuß von Bleiessig versetzt. Es scheidet sich dabei ein weißer Niederschlag in ziemlicher Menge ab, der aus einer Verbindung von Sapotoxin mit Bleioxyd besteht. Das Filtrat enthält jetzt nichts Saponinartiges mehr. Der von der Flüssigkeit abfiltrierte Niederschlag wird auf dem Filter erst mit Wasser, dann mit verdünntem und endlich mit absolutem Alkohol gewaschen. Das Waschen wird so lange fortgesetzt, bis eine Probe des Filtrates bei Zusatz von ammoniakalischem Bleiessig sich nicht mehr trübt. Hierauf

---

[1]) Weil, Beiträge zur Kenntnis der Saponinsubstanzen. Diss. Straßburg 1901.

[2]) Dimitrij Pachorukow, Arb. d. pharmakolog. Inst. zu Dorpat, hsg. von R. Kobert, Bd. 1, 1887, S. 4.

wird der Niederschlag vorsichtig gesammelt, die Hauptmenge des Bleies durch H_2SO_4 und der Rest aus dem Filtrat des Bleisulfatniederschlags durch Einleiten von Schwefelwasserstoff und darauffolgendes Filtrieren entfernt. Das Filtrat des Schwefelwasserstoffniederschlages, welches eine gelbliche Farbe hat, wird auf dem Dampfbade bis zur Syrupkonsistenz gebracht und mit absolutem Alkohol ausgekocht. Die heiß filtrierte Flüssigkeit wird nach dem Abkühlen so lange mit Äther versetzt, bis kein Niederschlag mehr entsteht. Der Niederschlag wird abfiltriert, im Vakuum über H_2SO_4 getrocknet und zu einem feinen, weißen Pulver verrieben.

Eine andere Darstellungsart ist die nach Greene, über die bei Kruskal sich weitere Angaben finden.

Von den Reaktionen des Sapindussaponins führe ich nach Kruskal die folgenden an.

Konzentrierte Schwefelsäure löst im Urglas beim Stehen an der Luft zunächst farblos, dann tritt vom Rande her intensiv rote und zuletzt violette Färbung auf.

Starke Salpetersäure löst das Sapindussaponin farblos auf; ein Zusatz von Kaliumbichromat ruft eine anfangs braune, dann grünlich werdende Färbung hervor.

Konzentrierte Salzsäure löst in Kälte farblos, beim Erwärmen wird die Flüssigkeit prachtvoll kirschrot. Diese Lösung zeigt ein Absorptionsband in Grün. In Äther oder Chloroform geht der Farbstoff nicht über. Alkohol entfärbt ihn. Ein Zusatz von Wasser läßt weiße Flocken von Sapogenin ausfallen.

Konzentrierte Essigsäure löst farblos; in der Wärme bleibt die Lösung unverändert.

Ammoniak, Kali- und Natronlauge lösen das Sapindussaponin leicht und farblos auf. Ein Zusatz von Säuren (verdünnt) verändert die Lösung nicht.

Gesättigte Barythydratlösung gibt mit konz.

Lösung von Sapindussaponin einen weißen, in H_2O löslichen Niederschlag von Barytsaponin.

Eisenchloridlösung gibt beim Erwärmen eine Trübung.

Quecksilberchlorid wird beim Kochen mit Sapindussaponin getrübt.

Kaliumpermanganat wird von Sapindussaponin entfärbt.

Neutrales Bleiacetat gibt keine Fällung, Bleiessig dagegen wohl, falls die Saponinlösung konzentriert genug ist. Erwärmen beschleunigt sein Erscheinen.

Zinnchlorid gibt in der Wärme eine weiße Fällung.

Die wichtigste von allen genannten Reaktionen der Sapindussaponine ist die durch Salzsäure bedingte prachtvolle Kirschrotfärbung. Sie unterscheidet diese Saponine von sehr vielen anderen, während die Rotfärbung durch konz. Schwefelsäure eine Gruppenreaktion ist, die allen Saponinen zukommt.

2. Über Quillajasaponine.

Nach Kobert[1]) finden sich in der Rinde von Quillaja Saponaria zwei Saponine, von ihm als Quillajasäure und als Quillajasapotoxin bezeichnet. Die erste Erwähnung der Stammpflanze geht auf Juan Ignazio Molina zurück. Er beschrieb in seiner Naturgeschichte Chiles 1782 einen Baum mit kratzend schmeckender, Schaum erregender Rinde, die von den Eingeborenen zum Waschen (quillan, waschen) benutzt wurde. Davon wurde der Baum Quillaja Saponaria benannt. Sein Bast spielt als Waschholz eine erhebliche

[1]) R. Kobert, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 23, 1887, p. 233.

Rolle, da er über 10 % Saponine enthalten kann. Von verwandten wohl saponinhaltigen Pflanzen sind Quillaja lancifolia Don., Quillaja brasiliensis Mart., Quillaja Sellowiana Walp. und Quillaja smegmadermos D. C. zu nennen.

Die Darstellung, die nur für den Bast von Quillaja Saponaria genauer studiert ist, beruht darauf, daß aus dem Dekokt mit neutralem Bleiacetat die Quillajasäure und aus dem Filtrat davon durch Bleiessig das Quillajasapotoxin niedergeschlagen wird. Aus einem Gemisch beider Saponine läßt sich die Quillajasäure leicht durch Ammonsulfat aussalzen. Konz. Schwefelsäure färbt beide Stoffe auf dem Urglas vom Rande her intensiv rot. Nicht ganz reine Handelspräparate geben mit Millons Reagens beim Kochen starke Rotfärbung; diese beruht aber auf einer Beimischung. Zur Erkennung solcher Handelspräparate der Quillajasaponine ist diese Reaktion aber sehr wichtig.

III. Eigene Versuche.

1. Einiges über die hämolytische Wirkung der Saponine.

Nach den von Kobert und seinen Mitarbeitern gemachten Versuchen und nach denen zahlreicher anderer Autoren, die sich mit Saponinspaltungen beschäftigt haben, zerfallen die Saponine bei hydrolytischer Zerlegung meist zuerst in Zucker und ein Anfangssapogenin oder Prosapogenin und bei weiterer Zerlegung nochmals in Zucker und ein Sapogenin, welches man als Endsapogenin bezeichnet. Einige Endsapogenine sind ganz unlöslich in verdünnten Alkalien und können daher zu biologischen Versuchen nicht herangezogen werden. Einige Endsapogenine sowie alle Anfangssapogenine dagegen bilden mit Alkalien wasserlösliche Salze, die meist

wie die Muttersaponine auf isolierte rote Blutkörperchen sowie, wenn auch weniger intensiv, auf 1—2 % Blut-Kochsalzmischung (d. h. auf physiologische Kochsalzlösung + 1—2 % Blut) hämolytisch wirken.

Ich habe nun, da ich die hämolytische Methode für Sapogenine anwenden wollte, erst mit einigen Saponinen mich auf derartige Versuche eingeübt. Die hämolytische Kraft einiger Saponine zeigt die nachstehende Tabelle. Die Versuche wurden immer in der Weise angestellt, daß defibriniertes serumhaltiges Blut, 50fach mit physiol. Kochsalzlösung verdünnt, in Mengen von je 5 ccm in eine Reihe von meist 7 Reagensgläschen eingegossen wurde. Zu Glas I und VII, die als Kontrollen dienten, kamen je 5 ccm phys. Kochsalzlösung und zu den anderen Gläschen steigende oder fallende Dosen des zu prüfenden Saponins in je 5 ccm phys. Kochsalzlösung gelöst. Die Gläschen blieben unberührt stehen; nach 24 Stunden wurde abgelesen.

Unterste Grenzen der hämolytischen Wirkung einiger Saponine für 2 %ige Blut-Kochsalzmischung.

Blutart	Saponin aus Bassia Maclayana	Saponin aus Phytolacca abyssinica	Saponin aus Honduras-sassaparille	Digitonin
Rind	1 : 50 000	1 : 1000		
Kaninchen	1 : 50 000	1 : 4000	1 : 166 000	1 : 130 000
Katze	1 : 25 000	1 : 1000	1 : 100 000	
Mensch	1 : 33 000	1 : 2500	1 : 50 000	1 : 100 000
Meerschwein	1 : 50 000	1 : 5000	1 : 100 000	1 : 100 000
Hammel	1 : 17 000	1 : 4000	1 : 125 000	1 : 100 000
Hund	1 : 33 000	1 : 2000	1 : 100 000	1 : 160 000
Huhn	1 : 20 000		1 : 100 000	
Pferd	1 : 33 000	1 : 1000	1 : 125 000	1 : 100 000

Wie die Tabelle ergibt, besitzen einige Saponine wie z. B. das Saponin aus Honduras sarsaparille und des Digitonin eine ganz erhebliche hämolytische Wirkung. Aber auch die einiger Sapogenine ist recht beträchtlich. Beim Phytolaccasapogenin ist sie nach Kobert[1]) sogar beträchtlicher als die des entsprechenden Saponins. Er fand z. B. für Menschenblut die Grenze der totalen Hämolyse durch Phytolaccasapogenin bei 1: 125 000 bis 1: 250 000, während sie für das Saponin bei 1: 2500 liegt; ich selbst fand sie für das Saponin wiederholt sogar noch niedriger. Für das Saponalbin d. h. für das Saponin der Saponaria alba, für ihr Anfangs- und für ihr Endsapogenin hat W. Laube[2]) die Stärke der hämolytischen Kraft für viele Blutarten untersucht. Ich verweise hiermit auf seine Angaben. Für die uns hier hauptsächlich interessierenden Saponine führe ich folgende Wirkungswerte an. Das Sapindussaponin von Sapindus Saponaria, das von Sapindus Mukorossi und das von Sapindus Rarak wirken nach Laube noch bei 13000—14000facher Verdünnung auf 2%iges Blut total hämolytisch; das Quillajasaponin von Sthamer nach Kobert[3]) auf Menschenblut noch bei 100 000facher Verdünnung ebenso.

Mir kommt es hier nur darauf an, darzutun, daß die Anfangssapogenine, wie außer Laube auch Fr. Thieme[4]) dargetan hat, hämolytische Wirkung besitzen, so daß

[1]) R. Kueny, Phytochemische Untersuchung der Früchte von Phytolacca abyssinica. Diss. Straßburg 1914.

[2]) Beiträge zur Kenntnis der Wirkung einiger Sapogenine etc. Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther. Bd. 10, 1912.

[3]) R. Kobert, über die pharmakol. Bedeutungen. Die biol. Wertbestimmung der Sarsaparillen etc. Ber. d. D. Pharm. Ges. Jg. 22, 1912, Heft 4.

[4]) Weitere Beiträge zur Kenntnis der Wirkung der Sapogenine. Diss. Rostock 1912.

ich hoffen konnte, sie mit Hilfe dieser Reaktion nachzuweisen.

Wie längst bekannt ist, und wie namentlich Rywosch betont hat, wirken die Saponine nicht auf alle Blutarten gleich stark. Meine Tabelle ergibt dies ebenfalls. Dasselbe gilt nach Laube, Thieme und mir von den Sapogeninen. Man tut daher bei derartigen Versuchen gut, stets mehrere Blutarten heranzuziehen. Verfährt man so, so bekommt man doch eine recht gute Vorstellung von der hämolytischen Kraft der untersuchten Substanz. Bei dieser Gelegenheit sei bemerkt, daß es sich bei sämtlichen Saponinen nicht um eine Hämolyse im buchstäblichen Sinne, sondern nur um den Austritt des Hämoglobins aus dem Stroma, nicht aber um die Auflösung der Stromata handelt. Aus dem Durchsichtigwerden der Blutproben nach dem Zusatz von reichlichen Saponinmengen möchte man auf völlige Auflösung der Blutkörperchen schließen; dies wäre jedoch ein Trugschluß, der darauf beruht, daß die von Hämoglobin befreiten Stromata glashell und durchsichtig werden. Auch in dieser Beziehung besteht zwischen Saponinen und Sapogeninen kein prinzipieller Unterschied.

2. Vorbemerkungen über die Verarbeitung des Kotes auf Sapogenine und Saponine.

Ich komme nun zur Besprechung der Verarbeitung des Kotes der Saponintiere. Dieser wurde, gleichgültig ob das Versuchstier ein Hund oder ein Huhn war, für mehrere Tage gesammelt, getrocknet (auf der Platte des Wasserbades), zerrieben und mit Petroläther oder Äther im Soxhletapparat ausgekocht. Dieses Auskochen entfernt das für die weitere Verarbeitung sehr störende Fett und gleichzeitig damit auch das noch mehr störende Cholesterin bezw. Phytosterin und Koprosterin. Wie Ransom gefunden hat, und wie seitdem zahllose Male bestätigt worden ist, verbinden sich Saponine leicht mit Cholesterin und ver-

wandten Stoffen zu Saponincholesteriden, die keine hämolytische Wirkung besitzen. Auskochen mit Äther oder anderen die Cholesterine, nicht aber die Saponine lösenden Stoffen dissoziert diese Verbindungen und macht die Saponine wieder frei. Vermutlich verhalten sich die Sapogenine analog. Unter allen Umständen mußte ich also durch dies Auskochen im Soxhlet fettfreien und cholesterinfreien Kot bekommen, während seine Saponine und Sapogenine, die weder im Äther noch im Petroläther löslich sind, nicht mit ausgezogen, und die vorher an Cholesterin gebundenen frei gemacht wurden. Auch in den genannten Extraktionsmitteln lösliche Farbstoffe wurden gleichzeitig mitentfernt.

Der mit Äther bzw. Petroläther erschöpfte Kot wurde nun mit 75 %igem Alkohol ausgekocht. In etwa 75 %igem Alkohol lösen sich in der Hitze fast alle Saponine und Sapogenine genügend gut, um sie bequem extrahieren zu können. Meist wurde hinterher auch noch mit 96 %igem nachgekocht. Da mein Versuchshund nur mit Rindermagen, der mit Wasser gut ausgewaschen war, gefüttert wurde, waren störende fremde Stoffe nicht in der verabreichten Nahrung anwesend. Im Hühnerkot machte die Entfernung schwarzgrüner Gallenfarbstoffe gewisse Schwierigkeiten.

Die Rückstände der verdunsteten alkoholischen Lösungen der Sapogenine des Kotes wurden in destilliertem Wasser und einigen Tropfen Natronlauge aufgenommen, filtriert und aus den braunen Filtraten die Sapogenine durch Salzsäure wieder ausgefällt. Die auf dem Filter gesammelten Sapogenine wurden mit Wasser gewaschen und nun in physiologischer Kochsalzlösung unter Neutralisierung mit kohlensaurem Natrium gelöst, filtriert und so verwendet. Meist begnügte ich mich mit dem Nachweis hämolytischer Wirkung. Jedoch gaben sie z. T. auch die chemischen Reaktionen der Sapogenine deutlich. Mehrmals habe ich, wo die beschriebene Reinigung ungenügend war,

die Sapogenine erst durch Lösen in heißem Methylalkohol und sodann nach dem Vorgange von Brandl aus Essigäther umgereinigt. Man bekommt dann in der Essigätherlösung ein viel reineres Sapogenin. Jedoch scheint auch in den in Methylalkohol löslichen, in Essigäther aber unlöslichen dunklen Massen unter Umständen noch ein Sapogenin enthalten zu sein. Nach den Versuchen Sieburgs mit den Sapogeninen des Helleboreins ist dies nicht verwunderlich, denn auch er fand bei der Helleboreinspaltung stets zwei Sapogenine.

Von Substanzen des normalen Kotes, welche hämolytisch wirken könnten, kommen die Gallensäuren in Frage. Ich habe jedoch bei Vorprüfungen am Kot des Huhnes und Hundes, niemals bei dem von mir gewählten Verfahren eine Hämolyse beim blinden Versuch eintreten sehen. Nach Voraussenden dieser Angaben dürften nun meine Versuche verständlich sein.

3. Versuche an lebenden Tieren.

I. Versuch.

Versuchstier: eine mittelgroße Henne von ca. 2000 g.

Versuchssubstanz: Sapindussaponin der Firma Hoffmann-La Roche aus dem Fruchtfleisch einer Sapindusart.

1. Fütterung am 3. VI. 13 mit 1 g Sapindussaponin. Das Tier bleibt gesund, bekommt keinen Durchfall.

2. Fütterung am 4. VI. 13 mit 1 g Sapindussaponin. Das Tier erkrankt, Kotmenge gering, wässerig. Wegen der Erkrankung wird das Huhn von jetzt ab nur alle 2 Tage mit Sapindussaponin gefüttert.

3. Fütterung am 6. VI. 13 mit 1 g Sapindussaponin.
4. „ „ 8. VI. 13 „ 1 „ „
5. „ „ 10. VI. 13 „ 1 „ „
6. „ „ 12. VI. 13 „ 1 „ „
7. „ „ 14. VI. 13 „ 1 „ „

Das vom 3. bis 15. Juli isolierte Huhn kommt am 15. Juni wieder in den gemeinsamen Hühnerstall. Es ist gesund geblieben.

Die **Untersuchung des Kotes auf ausgeschiedenes Sapindussapogenin** erfolgte in mehreren Portionen.

a. Der Kot, der bis zum 4. VI. abends entleert wurde, wurde gesammelt, getrocknet, im Soxhlet-Apparat entfettet und nach Entfernung des zum Entfetten verwendeten Petroläthers mit Alkohol

extrahiert. Der alkoholische Auszug wurde eingedunstet. Er stellte eine grün-schwarze, schmierige Masse dar. Nun wurde der Verdunstungsrückstand mit destilliertem Wasser und einer Spur Natronlauge gelöst, die Lösung filtriert. Das Filtrat wurde mit verdünnter Salzsäure ausgefällt. Hierauf wurde abermals filtriert, sodann der Filterrückstand mit physiologischer Kochsalzlösung — wenig Natriumkarbonat aufgelöst. Nun wurde abermals filtriert und schließlich das alkalisch reagierende Filtrat neutralisiert. Seine Menge betrug ca. 15 ccm.

Prüfung eines Teiles des Filtrates mit Katzenblutkörperchen 2%.

1. Glas: 5 ccm Katzenkörperchen + 5 ccm phys. Kochsalzlösung (Kontrolle).
2. „ 5 „ 2% „ + 3 „ „ „ + 2 „ der Lösung
3. „ 5 „ 2% „ + 4 „ physiolog. Kochsalzlös. + 1 „ der Lösung.

In Glas 2 sofortige Hämolyse.
In Glas 3 nach 24 h Hämolyse.

Ergebnis: Es ist eine hämolytische Substanz vorhanden und diese kann, abgesehen von Gallensäuren, nur das aus dem Saponin entstandene Sapogenin sein.

Prüfung eines anderen Teiles des Filtrates mit Kaninchenblut.

1. Glas: 5 ccm Kaninchenblut + 5 ccm phys. Kochsalzlösung (Kontrolle)
2. „ 5 „ „ + 3 „ „ „ + 2 „ der Lösung
3. „ 5 „ „ + 4 „ phys. Kochsalzlösung + 1 „ der Lösung.

In Glas 2 sofortige Hämolyse.

In Glas 3 nach 24 h noch unvollständige Hämolyse.

Ergebnis: Wie mit Katzenblut so läßt sich auch mit Kaninchenblut die Anwesenheit eines Sapogenins dartun.

Da das Sapogenin trotz der oben besprochenen Umfällung noch grün-schwarz war, wurde es noch zweimal umgefällt und dann in Essigäther gelöst, filtriert und das relativ helle Filtrat verdunstet. Der Verdunstungsrückstand wurde wieder gelöst und zu zwei Versuchen mit Schweineblut und Hammelblut benutzt.

Schweineblutkörperchen 2%.

Sapindussapogenin in 10 ccm gelöst.

1. Glas 5 ccm 2 % Schweineblut + 5 ccm phys. Kochsalzlösung (Kontrolle)
2. „ 5 „ 2 % „ + 3 „ „ „
   + 2 „ Sapindussapogeninlösung
3. „ 5 „ 2 % „ + 4 „ physiolog. Kochsalzlös.
   + 1 „ der Sapindussapogeninlösung.

Bei Glas 2 vollständige, bei Glas 3 fast vollständige Hämolyse nach 24 h.

Ergebnis: Auch mit Schweineblutkörperchen läßt sich die Anwesenheit eines Sapogenins dartun.

Hammelblutkörperchen 2 %.

Sapindussapogenin in 10 ccm gelöst.

1. Glas: 5 ccm 2 % Hammelblut + 5 ccm phys. Kochsalzlösung (Kontrolle)
2. „ 5 „ 2 % „ + 3 „ phys. Kochsalzlösung
   + 2 „ Sapindussapogeninlösung
3. „ 5 „ 2 % „ + 4 „ physiol. Kochsalzlösung
   + 1 „ Sapindussapogeninlösung

Totale Hämolyse bei Glas 2.

Partielle Hämolyse bei Glas 3.

Ergebnis: Selbst die Körperchen des schwer reagierenden Hammelblutes können zum Nachweis des Kotsapogenins der Henne benutzt werden.

b. Die Untersuchung des Kotes, der vom 4.—6. Juni 1913 entleert wurde, ergab nichts, wohl weil ich das Sapogenin zu verdünnt gelöst hatte.

c. Untersuchung des Kotes, der vom 6.—7. Juni 1913 entleert wurde.

Behandlung des Kotes zur Sapindussapogeningewinnung wie bei a.

Menschenblutkörperchen 2 %.

Sapindussapogeninlösung ca. 5 ccm.

1. Glas: 5 ccm 2 % Menschenblutkörperchen + 5 ccm phys. Kochsalzlösung (Kontrolle)
2. „ 5 „ 2 „ „ + 3 ccm phys. Kochsalzlösung
   + 2 „ der Sapindussapogeninlösung
3. „ 5 „ 2 „ „ + 4 „ physiol. Kochsalzlös.
   + 1 „ Sapindussapogeninlös.

Bei Glas 2 und 3 sofortige Hämolyse.

Ergebnis: Im Kot des 7.—8. Juni war sicher ein auf Menschenkörperchen hämolytisch wirkendes Sapogenin enthalten.

d. Kot vom 9.—10. Juni. Behandlung des Kotes zur Sapindussapogeningewinnung wie bei a.

Menschenblutkörperchen 2 %.

Sapindussapogeninlösung ca. 12 ccm.

1. Glas: 5 ccm 2 % Menschenblutkörperchen + 5 ccm phys. Kochsalzlösung (Kontrolle)
2. „ 5 „ 2 „ „ + 5 ccm der Sapindussapogeninlösung
3. „ 5 „ 2 „ „ + 1 „ phys. Kochsalzlösung + 4 „ der Sapindussapogeninlösung.

Bei Glas 2 totale, bei Glas 3 fast totale Hämolyse nach 24 h.

Ergebnis: Auch der Kot des 9.—10. Juni enthielt ein auf Menschenblutkörperchen hämolytisch wirkendes Sapogenin.

e. Der entfettete Kot vom 11.—12. Juni 1913 wird zur Untersuchung auf unzersetztes Sapindussaponin mit physiolog. Kochsalzlösung ausgezogen, filtriert und das Filtrat zu folgendem Versuch verwendet:

Hundeblutkörperchen 2 %.

Auszug aus dem Kot mit physiologischer Kochsalzlösung ca. 20 ccm.

1. Glas: 5 ccm 2 % Hundeblutkörperchen + 5 ccm physiolog. Kochsalzlösung (Kontrolle)
2. „ 5 „ 2 % „ + 5 ccm der Lösung
3. „ 4 „ 2 % „ + 6 „ „ „
4. „ 3 „ 2 % „ + 7 „ „ „

Keine Hämolyse nach 24 h.

Ergebnis: Offenbar hatte das Huhn das verfütterte Saponin jetzt weiter abgebaut als bisher, so daß ein wirksames Sapogenin nicht mehr zu finden war.

f. Der Kot, der vom 12.—15. Juni entleert wurde, wird mit Petroläther entfettet, dann mit physiologischer Kochsalzlösung extrahiert und der Auszug auf Sapogenine untersucht. Es ergaben sich ca. 20 ccm Lösung.

Menschenblutkörperchen 2 %.

Kochsalzauszug des Kotes mit Sodazusatz.

1. Glas: 5 ccm 2 % Menschenblutkörperchen + 5 ccm phys. Kochsalzlösung (Kontrolle)
2. „ 4 „ 2 % „ + 6 „ des Auszuges
3. „ 5 „ 2 % „ + 5 „ „ „
4. „ 5 „ 2 % „ + 3 „ „ „
   + 2 „ physiolog. Kochsalzlösung.

Wie bei Portion e keine Hämolyse nach 24 h.

Ergebnis: Wie bei e negativ.

Gesamt-Ergebnisse aus Versuch I.

1. Bei Fütterung von je 1,0 Sapindussaponin zwei Tage hintereinander bekommt ein mittelgroßes Huhn infolge Reizung der Darmschleimhaut Durchfall, während

2. einen Tag um den anderen die Fütterung mit 1,0 Sapindussaponin noch fünfmal erfolgen kann, ohne daß ernstliche Störungen eintreten. Das Tier erholte sich alsbald vollkommen.

Pro Kilogramm Tier wird also von einem Mittelhuhn etwa ein halbes Gramm Sapindussaponin, auf einmal jeden zweiten Tag verfüttert, vertragen. Würde diese Dose dagegen quantitativ resorbiert worden sein, so wäre vermutlich der Tod eingetreten. Aber die Resorption von Saponin war eben eine nur sehr geringe oder sie war sogar gleich Null.

3. Der Kot enthielt niemals unverändertes Saponin, welches durch die Salzsäurereaktion nachweisbar gewesen wäre. Von Ausscheidung des Saponins als solchen durch den Kot ist also keine Rede. Es war vielmehr die Gesamtmenge des gefütterten Saponins oder wenigstens des unresorbiert gebliebenen hydrolytisch gespalten. Diese Spaltung dürften die Darmenzyme in

Verein mit der normalen Darmflora besorgt haben.

4. Entsprechend dieser Spaltung ließ sich dem völlig entfetteten Kote durch heißen Alkohol ein Sapogenin entziehen. Dies erwies sich in angesäuerter physiologischer Kochsalzlösung unlöslich, in alkalischer aber löslich.

Dies gab mir die Möglichkeit, sehr bequem eine gewisse Reinigung d. h. die Abtrennung aller in Wasser unlöslichen Stoffe vorzunehmen.

5. Zum Entfernen weiterer grünbrauner Verunreinigungen wurde das Sapogenin dann noch in Essigäther gelöst. Wie viele Sapogenine löste es sich darin gut. Ob die ungelöst bleibende dunkle Masse noch ein zweites, in Essigäther unlösliches Sapogenin enthielt, habe ich nicht untersucht. Ich halte dies jedoch für nicht unmöglich, da auch bei der Verfütterung anderer Saponine ein Gemisch von Sapogeninen entsteht.

6. Sowohl vor als auch nach der Essigätherreinigung gelang es mir, wenn auch nicht bei jeder Kotportion, die hämolytische Wirkung des Sapogenins deutlich darzutun und zwar nicht nur für serumfreie Blutkörperchen sondern auch für serumhaltiges Blut verschiedener Tierarten. Normaler Hühnerkot enthält keine derartige Substanz.

7. In der Portion e und f, in denen ich keine hämolytische Wirkung bekam, war höchstwahrscheinlich weder die Hauptmenge des Saponins unzersetzt resorbiert noch meine Extraktion dieses Stoffes ungenügend gewesen. Da ich nämlich in jeder dieser Portionen unzweifelhaft eine aus alkalischer Lösung beim Ansäuern ausfallende Substanz von Sapogenincharakter hatte, so geht daraus hervor, daß hier doch immer wenigstens ein Sapogenin vorhanden war, nur war es nicht das hämolytische. Es ist nämlich nach Versuchen mit anderen Saponinen denkbar, daß an den genannten Tagen im Kot in überwiegender Menge noch ein weiter abgebautes Sapogenin enthalten

war, das nicht mehr hämolytisch wirkte. Die Darmfermente hatten eben allmählich gelernt das Saponin tiefer abzubauen. Die hämolytische Wirkung kommt allen Anfangssapogeninen zu, den unlöslichen Endsapogeninen aber nicht.

II. Versuch.

Versuchstier: eine mittelgroße Henne von ca. 2000 g.

Versuchssubstanz: Quillajasaponin der Firma Sthamer in Hamburg. Die Versuchssubstanz ist ein Gemisch von Quillajasäure mit relativ wenig Quillajasapotoxin.

1. Fütterung am 3. VI. 1913 mit 1,0 g Quillajasaponin. Das Tier hat nach wenigen Stunden Durchfall und frißt nicht mehr.
2. „ am 4. VI. 1913 mit 1,0 g Quillajasaponin. Das Tier ist noch krank. Kot wässerig (deshalb jeden zweiten Tag Fütterung).
3. „ am 6. VI. 1913 mit 1,0 g Quillajasaponin.
4. „ „ 8. VI. 1913 „ 1,0 „ „
5. „ „ 10. VI. 1913 „ 1,0 „ „
6. „ „ 12. VI. 1913 „ 1,0 „ „

Das Tier blutet am Vormittag des 12. VI. sehr stark. Quelle der Blutung unbekannt, nur ist sicher, daß das Blut aus dem Magendarmkanal stammt. Da das Tier am 14. VI. morgens aus dem Schnabel reichlich hellrotes Blut verliert, welches wohl aus dem Vormagen oder Kropf stammt, und sehr matt ist, wird der Versuch mit der Fütterung abgebrochen. Das Tier erholte sich langsam, aber vollständig.

Untersuchung des Kotes auf ausgeschiedenes Quillajasapogenin.

a. Der vom 3. auf 4. Juni 1913 entleerte Kot wird gesammelt, getrocknet, im Soxhlet-Apparat mit Petroläther entfettet und nach Entfernung des Äthers mit 75 % Alkohol heiß extrahiert. Der alkoholische Auszug wird eingedampft. Der Verdunstungsrückstand ist eine tiefgrüne Masse. Diese wird mit Essigäther in zwei Teile getrennt, in einen darin löslichen und einen darin unlöslichen.

Der in Essigäther lösliche Teil wird nach Verdunsten des Essigäthers in physiologischer Kochsalzlösung unter Zusatz von kohlensaurem Natron gelöst, filtriert, die alkalische bräunlich-gelbe Lösung bis zur Neutralität abgestumpft und an Katzenblutkörperchen geprüft.

Katzenkörperchensuspension 1 %.

Quillajasapogeninlösung aus dem Kot (ca. 9 ccm).

1. Glas: 5 ccm 1 % Katzenkörperchensuspension + 5 ccm physiolog. Kochsalzlösung (Kontrolle)
2. „ 5 „ 1 % „ + 1 ccm phys. Kochsalzlösung + 4 „ der Lösung
3. „ 5 „ 1 % „ + 3 „ phys. Kochsalzlösung + 2 „ der Lösung
4. „ 5 „ 1 % „ + 4 „ phys. Kochsalzlösung + 1 „ der Lösung.

Keine Hämolyse nach 24 h.

In gleicher Weise wird der in Essigäther unlösliche Teil in physiologischer Kochsalzlösung — Natronlauge gelöst und filtriert. Das schwarze Filtrat wurde von neuem mit einigen Tropfen verdünnter HCl gefällt, wieder filtriert und erst dann der Niederschlag in Kochsalzlösung und sehr wenig Natronkarbonat gelöst und in folgender Weise geprüft:

Katzenkörperchensuspension 1 %.

Quillajasapogeninlösung aus dem Kot vom 3.—4. Juni (ca. 14 ccm).

1. Glas: 5 ccm 1 % Katzenkörperchensuspension + 5 ccm phys. Kochsalzlösung (Kontrolle).
2. „ 5 „ 1 % „ + 5 „ der Lösung
3. „ 5 „ 1 % „ + 1 „ phys. Kochsalzlösung + 4 „ der Lösung
4. „ 5 „ 1 % „ + 2 „ phys. Kochsalzlösung + 3 „ der Lösung
5. „ 5 „ 1 % „ + 5 „ phys. Kochsalzlösung (Kontrolle).

Keine Hämolyse nach 24 h.

Ergebnis: In den ersten zwei Tagen nach Beginn der Fütterung findet sich im Kot des Hubnes noch nichts von wirksamem Sapogenin.

b. Untersuchung des Kotes, der vom 4.—6. Juni 1913 entleert wurde, auf ausgeschiedenes Quillajasapogenin. Behandlung des Kotes ohne Reinigung des Sapogenins mittels Essigäther.

Schweineblutkörperchen 2 %.

Quillajasapogeninlösung (ca. 20 ccm).

1. Glas: 5 ccm 2 % Schweineblutkörperchen + 5 ccm physiolog. Kochsalzlösung (Kontrolle)
2. „ 5 „ 2 % „ + 5 ccm der Lösung
3. „ 5 „ 2 % „ + 1 „ phys. Kochsalzlösung + 4 „ der Lösung

4. Glas: 5 ccm 2 % Schweineblutkörperchen + 2 ccm physiolog. Kochsalzlösung
+ 3 ccm der Lösung
5. „ 5 „ 2 % „ + 3 „ phys. Kochsalzlösung
− 2 „ der Lösung
6. „ 5 „ 2 % „ + 4 „ phys. Kochsalzlösung
+ 1 „ der Lösung
7. „ 5 „ 2 % „ + 5 „ phys. Kochsalzlösung (Kontrolle).

Bei 2 und 3 vollständige Hämolyse nach 30'.

Bei 4 vollständige Hämolyse nach 16 h.

Bei 5 und 6 partielle Hämolyse nach 16 h.

Ein kleiner Rest der Quillajasapogeninlösung aus dem Kote vom 4.—6. Juni wird noch mehrmals in Natronlauge gelöst und mit Säuren ausgefällt. Dann wird auf dem Filter die Fällung getrocknet und nach völligem Trocknen in Essigäther gelöst durch dreimaliges Übergießen mit vorher angewärmtem Essigäther. Dann wird gesondert die in Essigäther lösliche Portion und die darin unlösliche untersucht. Beide Teile werden in alkalischer Kochsalzlösung gelöst und je auf 4 ccm gebracht. Nun werden sechs Proben aufgestellt zu je 5 ccm mit 2 Tropfen Menschenblutkörperchen.

1. Glas: 5 ccm (1. Kontrolle)
2. „ 3 „ des in Essigäther unlöslichen } es erfolgt nur sehr
3. „ 1 „ „ „ „ „ } langsam Hämolyse.
4. „ 5 ccm (2. Kontrolle)
5. „ 3 „ des in Essigäther löslichen } es erfolgt rasch totale
6. „ 1 „ „ „ „ „ } Hämolyse.

Ergebnis: Während im Kot der ersten beiden Tage kein Sapogenin enthalten war, ließ sich solches im Kot der folgenden 2 Tage wohl nachweisen. Weiter: Das Sapogenin, das durch mehrmaliges Umfällen aus Hühnerkot nach der bekannten Methode gewonnen wurde, läßt sich durch Behandlung mit Essigäther in zwei Teile teilen. Der in Essigäther lösliche Teil ist nur spurweise gefärbt und wirkt stark hämolytisch, und der in Essigäther unlösliche Teil ist sehr dunkel und enthält nur noch Spuren der wirksamen Substanz. Offenbar handelt es sich auch hier um zwei Sapogenine, von denen nur das eine deutlich hämolytisch wirkt.

c. Untersuchung des Kotes, der vom 6.—8. Juni 1913 entleert wurde. Behandlung des Kotes zur Gewinnung von Quillajasapogeninlösung wie bei b.

2 ccm 2 %ige Menschenblutkörperchen + 2 ccm Quillajasapogeninlösung ergab fast totale Hämolyse nach 24 h.

Ergebnis: Wiederum ließ sich im Kot wirksames Sapogenin nachweisen; die Ausscheidung dieser Substanz dauert also an.

d. Kot vom 8.—10. Juni. Behandlung des Kotes wie bei b. Menschenblutkörperchen 2 %.

Quillajasapogeninlösung aus dem Kot (ca. 15 ccm), ohne Essigätherreinigung gewonnen.

1. Glas: 5 ccm 2 % Menschenblut + 5 ccm phys. Kochsalzlösung (Kontrolle)
2. „ 5 „ 2 % „ + 5 „ der Quillajasapogeninlös.
3. „ 5 „ 2 % „ − 3 „ „ „
   + 2 „ phys. Kochsalzlösung
4. „ 5 „ 2 % „ − 4 „ „ „
   + 1 „ der Quillajasapogeninlös.

Bei 2 totale, bei 3 und 4 partielle Hämolyse nach 24 h.

Ein Rest der Sapogeninlösung aus dem Kote vom 8.—10. Juni wird nach obigen Versuchen mit HCl ausgefällt und dann auf dem Filter gewaschen. Der trockene Filterrückstand wird im Wasserbad mit essigsaurem Äthyl ausgezogen. Diese Lösung wird zur Trockene eingedampft. Sodann wird der Verdunstungsrückstand in physiologischer Kochsalzlösung + Natronkarbonat gelöst und zu folgendem Versuche verwendet:

1. Glas: 5 ccm Katzenblutkörperchen + 5 ccm phys. Kochsalzlösung (Kontrolle)
2. „ 5 „ Katzenblutkörperchen + 5 ccm Quillajasapogeninlösung.

Bei Glas 2 erfolgt sofortige totale Hämolyse.

Gesamt-Ergebnisse von Versuch II.

1. Das Handelssaponin aus der Quillajarinde wirkt stärker reizend auf die Schleimhäute des Huhnes als das Sapindussaponin. Daher bekam das Tier schon am ersten Tage nach 1,0 g des Präparates (entsprechend 0,72 g reinen Saponinen) Durchfall und nach sechsmaliger Fütterung binnen 12 Tagen blutige Entleerungen aus dem

Schnabel, die wohl auf Blutaustritt in den Kropf schließen lassen. Das Tier erhielt pro Kilogramm Körpergewicht ca. 0,5 g Quillajasaponin.

2. Trotzdem überstand das Tier diese Dosen von 6 × je 0,5 g pro kg jeden zweiten Tag und erholte sich wieder.

3. Der Kot der ersten zwei Tage enthielt noch zu wenig Sapogenin um damit Hämolyse erzeugen zu können, der der folgenden Tage aber reichlich.

4. Das Sapogenin der späteren Kotproben ließ sich durch Essigäther in 2 Teile teilen, die beide hämolytisch wirkten; der helle in Essigäther lösliche Teil wirkte aber stärker.

III. Versuch.

Versuchstier: ein mittelgroßer Hund (17 kg).

Versuchssubstanz: Sthamersches Quillajasaponin, d. h. ein Gemisch von Quillajasäure und Sapotoxin mit 18 % Verunreinigungen.

Ein Hund, der schon zu Versuchen mit anderen Saponinen gedient hatte, wird 2 Monate später täglich mit je einem Gramm Sthamerschen Quillajasaponin gefüttert und zwar vom 18.—28. Juni. Da das Tier am 28. Juni Durchfall bekommt, wird mit der Quillajasapogeninfütterung ausgesetzt. Vor der Darreichung des Saponins enthielt der Kot nichts Hämolytisches.

Wie bei Versuch I und II wird auch der Hundekot, der vom 18.—22. Juni entleert wurde, auf Sapogenine untersucht.

Der wie bei Versuch I und II gewonnene Alkoholauszug des entfetteten Kotes wird zum Teil auf Sapogenine untersucht, indem der Verdampfungsrückstand des Alkoholauszuges in physiologischer Kochsalzlösung + etwas Natriumkarbonat gelöst wird.

Hühnerblutkörperchen 2 %.

Sapogeninlösung aus dem Kot vom 18.—22. Juni (ca. 16 ccm).

1. Glas: 5 ccm Hühnerblutkörperchen + 5 ccm phys. Kochsalzlös. (Kontrolle)
2. „ 5 „ „ + 5 „ } der Lösung des
3. „ 5 „ „ + 4 „ } Sapogenins
+ 1 „ phys. Kochsalzlösung.

Totale Hämolyse bei 2 und 3 nach 24 h.

Der Rest der noch vorhandenen Lösung wird mit HCl wieder

ausgefällt und filtriert. Der Filterrückstand wird in heißem, essigsaurem Äthyl gelöst und die Lösung filtriert. Das Filtrat wird sodann zur Trockene verdampft, der Verdunstungsrückstand in physiologischer Kochsalzlösung + einigen Tropfen Natronkarbonat gelöst und die sehr schwach alkalische Lösung zu folgendem Versuch verwendet. Die 7 ccm der Lösung werden auf folgende Weise geprüft:

1. Glas: 5 ccm der Lösung + 2 Tropfen Menschenblut
   + 3 ccm phys. Kochsalzlösung
2. Glas: 2 ccm „ „ + 1 Tropfen Menschenblut.

Bei 1 und 2 sofortige totale Hämolyse.

Ergebnis: Im Kot des Hundes tritt nach Darreichung von Sthamerschem Saponin schon in den ersten Tagen eine auf Hühnerkörperchen und auf Menschenblut hämolytisch wirkende Substanz auf, die ihrer Darstellung nach Sapogenin sein dürfte.

Es war jetzt noch nötig, den Kot auf etwaige Anwesenheit von unveränderten Saponinen zu prüfen.

Ein Teil des alkoholischen Auszuges aus dem Kot wird mit wässerigem Bleiessig ausgefällt und filtriert. Der Filterrückstand wird gelöst in verdünnter Lösung von Natronkarbonat. Das Filtrat wird mit verdünnter Schwefelsäure zur Entfernung des etwa noch vorhandenen Bleies versetzt, fast zur Neutralität angestumpft und filtriert. Etwa vorhandenes Sapogenin mußte in der noch spurweise sauren Lösung ungelöst bleiben, Quillajasapotoxin und Quillajasäure sich aber lösen. Nun wurde etwas Kochsalz zugesetzt, um die Lösung isotonisch zu machen.

Menschenblutkörperchen 2%.

Die Lösung der fraglichen Saponine betrug 8 ccm.

1. Glas: 5 ccm Menschenblutkörperchen + 5 ccm phys. Kochsalzlösung (Kontrolle)
2. „ 5 „ „ 1 „ phys. Kochsalzlös.
   + 4 „ d. fragl. Lösung
3. „ 5 „ „ 2½ ccm phys. Kochsalzlösung
   + 2½ ccm der fraglichen Lösung

Bei 2 und 3 Spuren einer Hämolyse nach 24 h.

Ergebnis: Anwesenheit von Spuren eines unzersetzten Glykosides ist zuzugeben.

Gesamt-Ergebnisse von Versuch III.

1. Ein Hund von 17 kg vertrug 10 Tage lang täglich per os ein ganzes Gramm Sthamersches Quillajasaponin d. h. 0,72 g reine Saponinsubstanzen der Quillajarinde. Erst dann bekam er Durchfall.

2. Im Kote schon der ersten 4 Tage war Sapogenin nachweisbar. Es wirkte auf Hühner- und Menschenblut hämolytisch.

3. Neben Sapogenin enthielt der alkoholische Kotauszug Spuren von unzersetzten Saponinen.

IV. Versuch.

Versuchstier: mittelgroßer H u n d (derselbe wie bei Versuch III).

Versuchssubstanz: 1 g S a p i n d u s s a p o n i n pro die.

Nachdem sich der Hund von Versuch III völlig erholt hat und der Kot völlig sapogeninfrei geworden ist, beginnt am 5. Juli wieder die Fütterung des Tieres, diesmal mit 1,0 g Sapindussaponin täglich. Am 9. Juli bekommt der Hund wieder Durchfall. Mit diesem Tag wird die Verfütterung von Sapindussaponin daher wieder ausgesetzt.

Der vom 5.—9. Juli entleerte Kot wird wie bei Versuch III auf Sapogenine untersucht. Die Methodik ist dieselbe wie vorher. Die schwach alkalische Sapogeninlösung (ca. 9 ccm) wird mit 2 % P f e r d e b l u t k ö r p e r c h e n auf Sapogenine geprüft:

1. Glas: 5 ccm 2 % Pferdeblutkörperchen + 5 ccm phys. Kochsalzlösung (Kontrolle)
2. „ 5 „ „ + 5 „ Sapindussapogeninlösung.

In Glas 2 sofortige Hämolyse.

Der Rest der Lösung wird mit HCl ausgefällt und filtriert, der Filterrückstand sodann in heißem, essigsaurem Äthyl gelöst, filtriert, zur Trockene verdampft, in physiologischer Kochsalzlösung + Natronkarbonat gelöst, zur Neutralität abgestumpft und dann zu folgendem Versuch verwendet:

M e n s c h e n b l u t k ö r p e r c h e n 2 %.

Sapindussapogeninlösung ungereinigt (ca. 5 ccm).

1. Glas: 5 ccm 2 % Menschenblutkörperchen + 5 ccm physiolog. Kochsalzlösung (Kontrolle)
2. „ 5 „ 2 % „ + 2 ccm der Sapindussapogeninlösung
3. „ 4½ ccm 2 % „ + 2½ ccm der Sapindussapogeninlösung

In Glas 2 und 3 sofortige Hämolyse.

Ergebnis: Im Kot ist auch nach der Fütterung von Sapindussaponin Sapogenin nachweisbar.

Gesamtergebnisse der Versuche bei Verfütterung von Sapindussaponin und Quillajasaponin.

1. Beide bei meinen Versuchen verwendeten Saponine, Sapindussaponin sowohl wie Quillajasaponin reizen den Magendarmkanal, letzteres stärker. Dieser Satz scheint für Vögel (Huhn) und fleischfressende Säugetiere (Hund) zu gelten.

2. Sapindus- und Quillajasaponin werden der Hauptmenge nach im Magendarmkanal gespalten.

3. Diese Spaltung ist eine fermentative und eine mikrobische. Dabei entsteht Zucker und ein Sapogenin. Der Zucker bzw. das Zuckergemisch schwindet vermutlich sehr rasch, sei es, daß es resorbiert, sei es, daß es durch Mikroben zu Säuren abgebaut wird. Das Sapogenin ist zunächst ein Anfangssapogenin bzw. ein Gemisch zweier Anfangssapogenine. Beim Huhn scheint nach einiger Zeit die Umwandlung weiter zu gehen, mindestens bis zu einem Endsapogenin.

4. Diese Sapogenine werden gar nicht oder wenigstens nicht vollständig resorbiert; sie lassen sich deshalb im Kote nachweisen. Wie weit dieser Nachweis quantitativ ist, habe ich nicht untersucht.

5. Die aus dem Kote ausgezogenen Sapogenine lassen sich mit Essigäther in zwei Teile trennen. Dabei ergibt sich für Sapindussapogenin

a) ein in Essigäther lösliches und hämolytisch wirkendes Sapogenin;

b) vermutlich ein nicht hämolytisch wirkendes;

für Quillajasapogenin

a) ein in Essigäther lösliches, stark hämolytisch wirkendes Sapogenin;

b) ein in Essigäther unlösliches, weniger stark hämolytisch wirkendes Sapogenin.

6. Die aus dem Kote ausgezogenen Sapindussapogenine wirkten hämolytisch auf Katzen-, Kaninchen-, Schweine-, Hammel-, Menschen- und Pferdeblut.

Die aus dem Kote gewonnenen Quillajasapogenine wirkten hämolytisch auf Menschen-, Katzen-, Huhn- und Schweineblut.

7. Der Nachweis der Sapogenine gelang gleich gut aus dem Hunde- und Hühnerkot.

Vorstehende Ergebnisse bilden eine Erweiterung und teilweise Bestätigung der Versuche von Brandl und Mayr. Auch bei meinen zwei Saponinen ließ sich im Kote des Hundes ein Sapogenin nachweisen. Kornradensapotoxin, Sapindussapotoxin und die beiden Saponine der Quillajarinde werden also im Darmkanal des Hundes der Hauptmenge nach fermentativ gespalten. Höchst wahrscheinlich beginnt diese Spaltung schon im oberen Dünndarm unter Einwirkung des Pankreassaftes und Dünndarmsaftes und wird dann im Dickdarm durch Mikroben vervollständigt. Für den Nachweis von Sapogeninen im Kote des Huhnes weichen meine Ergebnisse von denen der genannten Autoren wesentlich ab. Sie vermochten im Kote dieses Tieres nach Kornradensapotoxinfütterung kein Sapogenin zu finden, während bei meinen Versuchen nach Verfütterung von Quillajasapotoxin und Sapindussapotoxin der Nachweis von Sapogeninen im Kot wenigstens zeitweise gelang. Das Huhn verhielt sich also bei meinen Versuchen zeitweise analog dem Hund.

Zum Schluß sei mir noch gestattet, Herrn Geheimrat Kobert aufrichtig danken zu dürfen für die gütige Überlassung des Themas und für die freundliche Förderung, die er vorstehender Arbeit angedeihen ließ.

Lebenslauf.

Ich, Hans Bäck, wurde geboren am 19. April 1884 zu Reichertshofen in Bayern, wo ich auch die Volksschule besuchte. Das Reifezeugnis für das Hochschulstudium erwarb ich mir am humanistischen Gymnasium in Ingolstadt. Nach einem 5semestrigen Studium der Tierheilkunde an den Hochschulen von München und Dresden trat ich im Sommersemester 1909 zum Studium der Humanmedizin über. Ich besuchte die Universitäten in München, Lausanne, Erlangen und Rostock. Im Herbste 1913 unterzog ich mich in Rostock der medizinischen Schlußprüfung.